

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16628

研究課題名（和文）ヒト生体内において重要な役割を果たすトキソプラズマの病原性因子の探索

研究課題名（英文）Survival strategy of *Toxoplasma gondii* in various human cells.

研究代表者

伴戸 寛徳（Bando, Hironori）

東北大学・農学研究科・助教（研究特任）

研究者番号：60724367

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：トキソプラズマは、ヒトを含め全ての恒温動物に感染することが可能な人獣共通感染症の原因となる寄生虫です。免疫不全患者や妊婦が初感染した場合、重篤なトキソプラズマ症の原因となるにもかかわらず、有効な根治治療法や予防技術は未だに確立されていません。本研究では、トキソプラズマがヒトの脳神経へ潜伏感染するメカニズムの一端を解明し、その作用機序を阻害することで、トキソプラズマの潜伏感染を抑制することが可能な化合物を見出しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、トキソプラズマが脳に感染すると、脳神経細胞の中で潜伏感染することを明らかにしました。さらに、トキソプラズマが脳神経細胞の代謝に及ぼす影響とそのメカニズム、そして潜伏感染機構を明らかにしました。これらの成果は、長年不明のままであった寄生虫の潜伏感染メカニズムを解明した点で学術的意義の高い成果です。また今後、トキソプラズマの感染を制御するための新たな技術、あるいは新薬の開発に繋がることが期待されるため、社会的・医学的意義の高い成果です。

研究成果の概要（英文）：*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular protozoan parasite that can infect the nucleated cells of all warm-blooded animals including humans. Despite the fact that immunocompromised patients or pregnant women can cause severe toxoplasmosis when first infected, no effective curative treatment or prevention techniques have yet been established. In this study, we elucidated one part of the mechanism by which *Toxoplasma* latently infects human brain, and discovered compounds that inhibit the virulence mechanism of *T. gondii* and latent infection.

研究分野：免疫寄生虫学

キーワード：トキソプラズマ 脳神経 グルタミン 潜伏感染

1. 研究開始当初の背景

トキソプラズマはネコを終宿主とする偏性細胞内寄生原虫であり、ヒトを含め全ての恒温動物に感染することが可能な人獣共通感染症の原因となる病原体である。また、トキソプラズマに汚染された肉を加熱不完全な状態で食べることがヒトへの主な感染経路であるため、食品由来感染症の一つとしても知られている。健常者が感染した場合、多くは不顕性感染し、生涯にわたって宿主体内に潜伏感染するが、臓器移植や免疫不全患者などを含め免疫が低下した場合、潜伏感染虫体が再活性化し、トキソプラズマ脳炎や肺炎などの重篤なトキソプラズマ症を引き起こす。また、妊婦が初感染した場合、経胎盤感染によって胎児に感染し、胎内死亡や流産に加え、水頭症など重篤な先天性トキソプラズマ症を引き起こし、患児の12%以上は4年以内に死亡し、生存した場合も精神障害などになる可能性が高いことが知られている。国内のトキソプラズマ症患者数は70000人以上であり、年々患者数は増加していることが報告されている。こうしてトキソプラズマ症は、2012年9月に患者会が設立されるほど、我が国で医学的に大きな問題となっている食品由来感染症であるにもかかわらず、有効な根治治療法や予防技術は未だに確立されていない。

2. 研究の目的

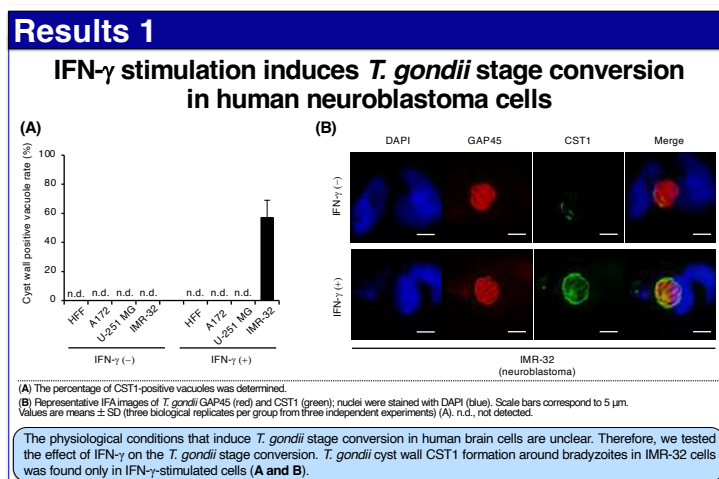
本研究では、トキソプラズマ症の新規予防技術の創出に向けて、ヒトの脳細胞内においてトキソプラズマの潜伏感染に重要な宿主因子の同定と、これを人為的に制御することによる感染予防技術の開発を目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 「ヒトの脳細胞内においてトキソプラズマの潜伏感染に重要な宿主因子の同定」を行うために、様々なヒトの脳由来細胞をさまざまな条件下で培養し、トキソプラズマの潜伏感染を誘導することで、トキソプラズマの潜伏感染に重要な宿主因子を特定する。
- (2) 「トキソプラズマの潜伏感染に重要な宿主因子を人為的に制御することによる潜伏感染制御技術の開発」を行うために、ヒトの脳細胞内においてトキソプラズマの潜伏感染に重要な宿主因子による潜伏感染メカニズムを解明し、低分子化合物による制御を検討する。

4. 研究成果

ヒト体内に感染したトキソプラズマは急増虫体 (Tachyzoite) として増殖して全身へ感染を広げていき、脳に到達するとステージ変換を起こして潜伏感染虫体 (Bradyzoite) を形成するが、その形成メカニズムはほとんど明らかになっていない。トキソプラズマが潜伏感染しやすい組織

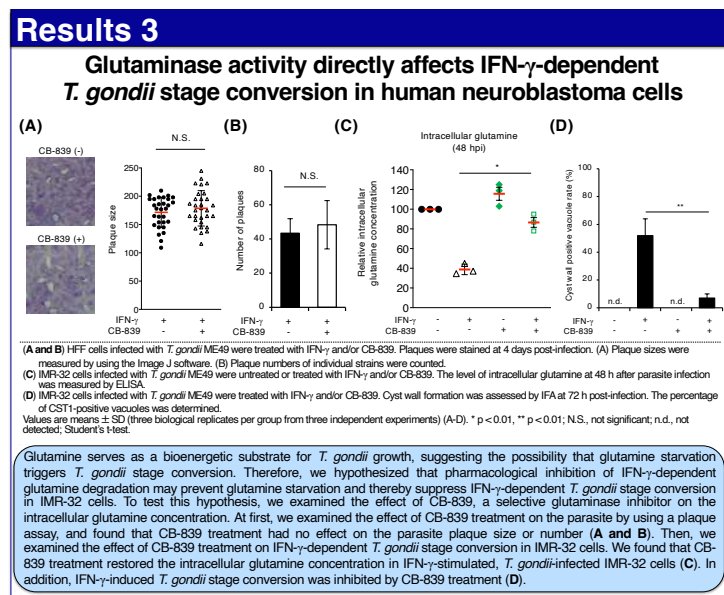
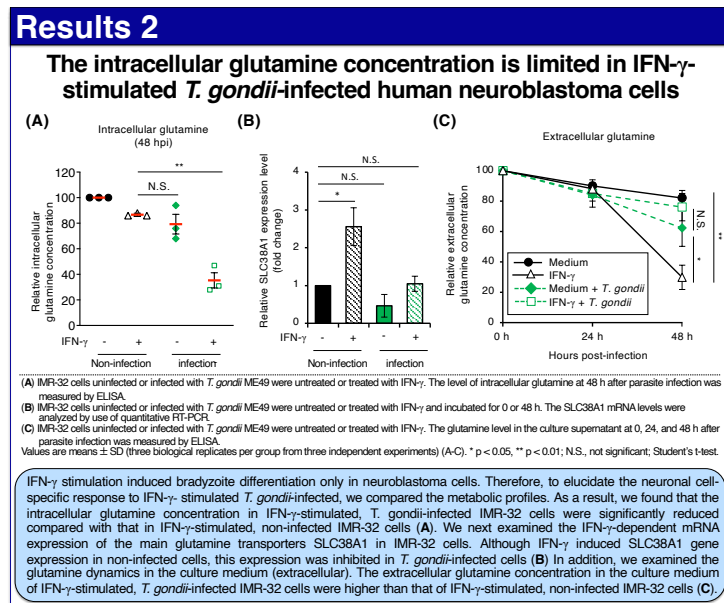


として脳が知られているが、どの細胞に潜伏感染するかは明らかになっていない。そこでまず我々は脳組織のどこにトキソプラズマが感染するかを明らかとするために、ミクログリア、アストロサイト、神経細胞への潜伏感染動態評価を行った。その結果、神経細胞（IMR-32）では、サイトカインの一種であるインターフェロンガンマ（IFN- γ ）依存的に潜伏感染虫体が形成されることを明らかにした（Results 1）。

次に、トキソプラズマ感染に伴う神経細胞の生理的な変化を解析したところ、細胞内のグルタミン濃度が著しく低下していることを見出した（Results 2A）。さらに、トキソプラズマ感染脳神経細胞では、細胞膜上に発現しているグルタミントランスポーターSLC38A1の活性が抑制され（Results 2B）、なおかつ、細胞内のグルタミン分解酵素（グルタミンナーゼ）の活性が増加すること、そしてそれらの生理的変化がトキソプラズマの潜伏感染の成立に重要であることを明らかにした（Results 2C）。

そこで、グルタミンナーゼの活性化を、老化や加齢制御効果で注目されているグルタミンナーゼ阻害剤の一つであるCB-839を用いて潜伏感染の制御を試みた。その結果、CB-839はトキソプラズマに直接的な影響を及ぼさないにも関わらず（Results 3A、3B）、宿主細胞内グルタミン濃度の低下を抑制し（Results 3C）、トキソプラズマのIMR-32への潜伏感染を抑制することに成功した（Results 3D）。

次に、生体内に近い性質を有するヒトiPS由来神経細胞を用いて、潜伏感染メカニズムの解明を進めた。まず、トキソプラズマ感染に伴う神経細胞の生理的な変化を解析したところ、IMR-32を用いた実験と同様に、細胞内のグルタミン濃度が著しく低下していることを見出した

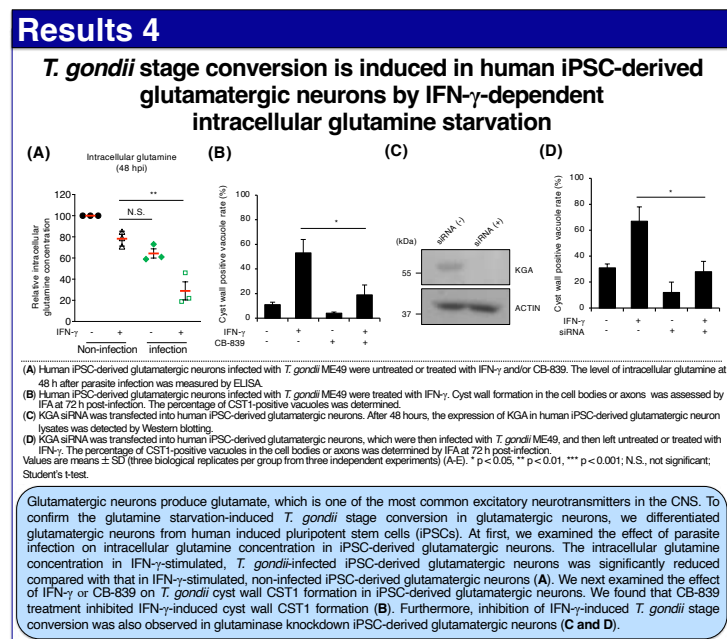


(Results 4A)。そしてそれらの生理的変化がトキソプラズマの潜伏感染の成立に重要であることを明らかにした (Results 4B)。さらに、CB-839 を作用させることでグルタミンナーゼの活性化を抑制して潜伏感染を抑制でき (Results 4B)、この結果を裏付ける成果として、グルタミンナーゼを siRNA によってノックダウンした iPS 細胞でも同様の結果が得られた (Results 4C、4D)。

以上の結果から、

- ① ヒト神経細胞内で IFN- γ 依存的にトキソプラズマの潜伏感染虫体が形成されること
- ② ヒト神経細胞内での潜伏感染虫体形成誘導には、宿主細胞内グルタミン濃度が関与していること
- ③ グルタミンナーゼの活性阻害によってヒト神経細胞内での潜伏感染虫体形成を制御できる可能性があること
- ④ グルタミンナーゼ阻害剤である CB-839 が新規創薬シーズの一つであること

これらを明らかとした。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Bando Hironori, Fukuda Yasuhiro, Watanabe Nina, Olawale Jeje Temitope, Kato Kentaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Depletion of Intracellular Glutamine Pools Triggers Toxoplasma gondii Stage Conversion in Human Glutamatergic Neurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 788303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2021.788303	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Pradipta Ariel, Bando Hironori, Ma Ji Su, Tanaka Shun, Sasai Miwa, Yamamoto Masahiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Plasmodium UIS3 avoids host cell-autonomous exclusion that requires GABARAPs but not LC3 and autophagy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102335 ~ 102335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2021.102335	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fisch Daniel, Clough Barbara, Domart Marie-Charlotte, Encheva Vesela, Bando Hironori, Snijders Ambrosius P., Collinson Lucy M., Yamamoto Masahiro, Shenoy Avinash R., Fricke Eva-Maria	4. 巻 32
2. 論文標題 Human GBP1 Differentially Targets Salmonella and Toxoplasma to License Recognition of Microbial Ligands and Caspase-Mediated Death	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108008 ~ 108008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakaguchi Naoya, Sasai Miwa, Bando Hironori, Lee Youngae, Pradipta Ariel, Ma Ji Su, Yamamoto Masahiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Role of Gate-16 and Gabarap in Prevention of Caspase-11-Dependent Excess Inflammation and Lethal Endotoxic Shock	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 561948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.561948	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Murakoshi Fumi, Bando Hironori, Sugi Tatsuki, Adeyemi Oluyomi Stephen, Nonaka Motohiro, Nakaya Takaaki, Kato Kentaro	4. 巻 14
2. 論文標題 Nullscript inhibits Cryptosporidium and Toxoplasma growth	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 159 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpddr.2020.10.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Bando H, Fukuda Y, Yamamoto M, Kato K.	4. 巻 18
2. 論文標題 Immune evasion mechanisms of the zoonotic protozoan parasite Toxoplasma gondii in mammalian hosts.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Integrated Field Science	6. 最初と最後の頁 13-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bando H, Fukuda Y, Yamamoto M, Kato K.	4. 巻 17
2. 論文標題 Toxoplasma gondii effectors TgIST and TgGRA15 differentially target host IDO1 to antagonize the IFN- γ -induced anti-T. gondii response in human cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Integrated Field Science	6. 最初と最後の頁 22-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bando Hironori, Lee Youngae, Sakaguchi Naoya, Pradipta Ariel, Sakamoto Ryoma, Tanaka Shun, Ma Ji Su, Sasai Miwa, Yamamoto Masahiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Toxoplasma Effector GRA15-Dependent Suppression of IFN- γ -Induced Antiparasitic Response in Human Neurons	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2019.00140	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 ヒトiPS由来神経細胞におけるトキソプラズマの潜伏感染虫体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 原虫感染に際して腸管上皮細胞の非古典的MAPKが果たす役割
3. 学会等名 分子生物学会第44回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 人獣共通感染性原虫の寄生メカニズムに関する研究
3. 学会等名 第20回日本農学進歩賞受賞記念講演（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 脳神経細胞内グルタミン濃度の変化がトキソプラズマの潜伏感染虫体形成に及ぼす影響
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 ヒト脳神経細胞におけるトキソプラズマの潜伏感染虫体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第 90 回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hironori Bando
2. 発表標題 Toxoplasma gondii effectors TgIST and TgGRA15 differentially target host IDO1 to antagonize the IFN- γ -induced anti-T. gondii response in human cells
3. 学会等名 The 17th International Symposium on Integrated Field Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hironori Bando
2. 発表標題 Immune evasion mechanisms of the zoonotic protozoan parasite Toxoplasma gondii in mammalian hosts
3. 学会等名 International Virtual Symposium "New Insights on Animal Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 ヒトの脳細胞における宿主-トキソプラズマ間相互作用の解明
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 蚊の腸内細菌がマラリア原虫の有性生殖期に及ぼす影響の解明
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会 フォーラム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸寛徳
2. 発表標題 第89回日本寄生虫学会
3. 学会等名 ヒトの脳神経細胞内におけるトキソプラズマのステージ変換メカニズムの解明
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hironori Bando, Yasuhiro Fukuda, Masahiro Yamamoto, Kentaro Kato
2. 発表標題 Toxoplasma gondii effectors TgIST and TgGRA15 differentially target host IDO1 to antagonize the IFN- γ -induced anti-T. gondii response in human cells
3. 学会等名 The 17 th International Symposium on Integrated Field Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伴戸 寛徳, 山本雅裕, 加藤健太郎
2. 発表標題 ヒト脳細胞における宿主-トキソプラズマ間相互作用の解明
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伴戸 寛徳, 加藤健太郎
2. 発表標題 ヒト脳細胞におけるトキソプラズマのステージ変換機構の解明
3. 学会等名 第27回分子寄生虫学ワークショップ / 第17回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伴戸寛徳	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 100
3. 書名 アグリバイオ	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>受賞歴</p> <p>日本農学会 第20回日本農学進歩賞 受賞 2021年11月 第164回日本獣医学会学術集会 第12回日本獣医寄生虫学奨励賞 受賞 2021年 9月 東北大学 令和3年度先端農学研究奨励賞 受賞 2021年 4月 International Virtual Symposium "New Insights on Animal Science" Presentation Award 受賞 2020年11月 第163回日本獣医学会学術集会 2020-2021年度 獣医学奨励賞 受賞2020年 9月 第83回日本寄生虫学会大会 第29回日本寄生虫学会奨励賞 受賞 2020年 6月</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------